



University of Groningen

## Synthese van dooierewitten door de haan

Bergink, Engelbert Willem

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

### *Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

### *Publication date:*

1973

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

### *Citation for published version (APA):*

Bergink, E. W. (1973). Synthese van dooierewitten door de haan. s.n.

### **Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

### **Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Twee belangrijke dooierewitten, lipovitelline en fosvitine, worden uitsluitend in de lever gesynthetiseerd, en bij de leggende kip via de bloedbaan naar het ovarium getransporteerd, waar ze in de dooier worden ingebouwd. De synthese van deze eiwitten kan bij hanen worden opgewekt door toediening van het vrouwelijke geslachtshormoon oestradiol. Beide eiwitten worden onmiddellijk na synthese in de vorm van een complex in de bloedbaan uitgescheiden, van waaruit het eiwit ook weer verdwijnt. Het systeem biedt de mogelijkheid om de regulering van de genexpressie bij hogere dieren te onderzoeken.

In dit proefschrift wordt, na een bespreking van de hormonaal geregleerde eiwitsynthese, het onderzoek naar de eigenschappen van de geïnduceerde eiwitten en vooral het onderzoek naar de kinetiek van de geïnduceerde eiwitsynthese beschreven. Op grond van dit laatste onderzoek zijn de factoren, die de synthese van het complex bepalen, geanalyseerd.

Het complex kan alleen met behulp van enzymen in de componenten lipovitelline en fosvitine gesplitst worden. Zelfs na denaturatie in SDS en na reductie en blokkering van de thiolgroepen in denaturerend SDS-milieu treedt geen dissociatie in de componenten op. Wel ontstaan lipovitelline en fosvitine uit complex als enkele peptidebindingen met behulp van trypsine worden verbroken. Wij concluderen hieruit, dat het complex uit één enkele polypeptideketen van tenminste 2000 aminozuren bestaat, die in de lever wordt gesynthetiseerd en tijdens of vlak na de inbouw in de dooier in lipovitelline en fosvitine wordt gesplitst.

De "gecoördineerde synthese" van lipovitelline en fosvitine wordt hierdoor ook verklaard (hoofdstuk V). Een ander eiwit dat naast complex na toediening van oestradiol in de bloedbaan verschijnt is niet gecoördineerd gereguleerd (hoofdstuk VI).

De concentratie van het complex in plasma kan snel en nauwkeurig bepaald worden door het proteïnefosfaatgehalte te meten. Hierdoor kan in hetzelfde dier het concentratieverloop vanaf het moment van de hormoontoediening worden gevolgd. De afbraak van ingespoten complex blijkt over het gehele gebied volgens een eerste-orde reactie te verlopen, en wel met een halfwaardetijd van 5.2 uur in niet-geoestrogeneerde hanen en 8.4 uur bij geoestrogeneerde hanen. Uit de concentratiecurve en deze afbraakgegevens kan de synthesesnelheid van complex berekend worden. Vanaf 20 uur na toediening van oestradiol neemt de synthesesnelheid gedurende enkele dagen (afhankelijk van de hormoon-dosis) lineair toe. In dezelfde periode neemt ook de hoeveelheid lipovitelline-synthetiserende polysomen lineair toe<sup>160</sup>. Op grond van beide waarnemingen kan berekend worden, dat het complex gedurende de gehele periode met een constante snelheid van ongeveer 8 aminozuren per seconde per ribosoom wordt gesynthetiseerd. Hieruit volgt, dat de synthesesnelheid wordt bepaald door de in het cytoplasma aanwezige mRNA en dat na hormoontoediening een relatief lang-

levende mRNA met een vrij constante snelheid wordt gesynthetiseerd.

Indien een tweede hormoon dosis wordt gegeven geruime tijd nadat het complex uit de bloedbaan is verdwenen, kan al na 5 uur een verhoging van het proteïnefosfaatgehalte gemeten worden. Na een eerste oestradiol-injectie is dit pas na meer dan 10 uur het geval. Om het werkelijke starttijdstip te vinden en dit "geheugen-effect" te bestuderen, werd gebruik gemaakt van een gevoeliger detectiemethode. Op grond van de incorporatie van gemerkt fosfaat is geconcludeerd, dat de synthese van complex start tussen 3 en 4 uur zowel na een eerste als na een tweede oestradiol-injectie.

Wij zijn erin geslaagd om het concentratieverloop van complex na een eerste en een tweede hormoon-injectie te berekenen uit de gegevens betreffende de synthese- en de afbraaksnelheid. De synthesesnelheid is tot 3.5 uur na een eerste injectie onmeetbaar klein en neemt daarna versneld toe, totdat tussen 10 en 20 uur na hormoon-toediening een constante toename bereikt wordt.

Na een tweede hormoon-injectie daarentegen neemt de synthesesnelheid al vanaf het starttijdstip lineair toe. De langzame toename van de synthesesnelheid na een eerste injectie is het gevolg van een minder snelle toename van de hoeveelheid mRNA voor complex en/of het gevolg van een lagere initiatiesnelheid van de complexsynthese: de synthesesnelheid verloopt ook in de beginperiode parallel met de hoeveelheid specifieke polysomen.

De factor, die voor het "geheugen-effect" verantwoordelijk is, heeft een zeer lange levensduur of wordt na een eerste injectie in grote overmaat gesynthetiseerd. Het "geheugen-effect" is namelijk 50 dagen na de eerste oestradiol-injectie nog onverminderd waarneembaar.

Indien de tweede oestradiol-injectie gegeven wordt op een moment, dat de complexconcentratie weer begint te dalen, treedt binnen 3.5 uur een stijging van de complexconcentratie op. Deze verhoogde complexsynthese kan niet geremd worden door actinomycine D<sup>62</sup> en is dus een gevolg van een effect van oestradiol op de vertaling van nog aanwezige mRNA's, omdat actinomycine D geen invloed heeft op de afbraak van complex.

Geconcludeerd kan worden, dat oestradiol de synthese van dooierewitten induceert door de mRNA-synthese aan te zetten en vermoedelijk door daarnaast de expressie van het mRNA in zekere mate te stimuleren.